

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA

E.A.P. DE MEDICINA HUMANA

Relación entre resistencia a rifampicina por pruebas rápidas de sensibilidad y tb mdr por prueba de sensibilidad convencionales, Lima-Callao, 2013

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Cirujano

AUTOR

Fernando Jeancarlos Imán Izquierdo

ASESORES

Mg. Martha Martina Chávez

José Luis Cabrera Rivero

Lima – Perú

2014

Agradecimientos

Agradezco a Dios y a la Virgen por haberme dado las fuerzas necesarias y guiarme en todo momento en el desarrollo de este trabajo de investigación.

A mis padres que me han brindado su apoyo incondicional durante estos años de estudio.

Al médico neumólogo José Luis Cabrera Rivera por la paciencia y orientación brindada durante el proceso de elaboración de la tesis.

A los docentes de la Facultad de Medicina San Fernando de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, y en especial a mi asesora Magister Martha Martina Chávez por brindarme sus conocimientos y experiencias durante el proceso de mi formación académico-profesional.

DEDICATORIA

Este trabajo de investigación lo dedico a mis Queridos padres ya que gracias a sus consejos, motivaciones y amor, he logrado culminar mis anhelados estudios de medicina.

ÍNDICE

I.	RESUMEN	1
II.	CAPÍTULO I	
1.	INTRODUCCIÓN	4
2.	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	6
3.	OBJETIVOS GENERAL Y ESPECÍFICOS	6
4.	MARCO TEÓRICO	7
4.1.	EPIDEMIOLOGÍA	7
4.2.	RESISTENCIA A LA RIFAMPICINA	7
4.3.	PRUEBAS DE SENSIBILIDAD	11
III.	CAPÍTULO II	
1.	TIPO DE INVESTIGACIÓN	16
2.	POBLACIÓN Y MUESTRA	16
3.	CRITERIOS DE INCLUSIÓN	16
4.	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	17
5.	PLAN DE ANÁLISIS	18
6.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	18
7.	CONSIDERACIONES ÉTICAS	19
IV.	CAPÍTULO III	
1.	RESULTADOS	20
2.	DISCUSIÓN	26
3.	CONCLUSIONES	29
4.	RECOMENDACIONES	30
V.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Características demográficas, pruebas de sensibilidad, condición VIH y tratamiento previo de los pacientes con tuberculosis pulmonar con resistencia a rifampicina.	20
Tabla 2	Patrones de resistencia de los pacientes, según el método utilizado: pruebas de sensibilidad rápida y convencional de Lima y Callao	21
Tabla 3	Patrones de resistencia según prueba de sensibilidad convencional de los pacientes con resistencia aislada a rifampicina, por método PSR empleado, Lima y Callao.	23
Tabla 4	Patrones de resistencia según prueba de sensibilidad convencional de los pacientes con resistencia aislada a rifampicina por prueba de sensibilidad rápida de Lima y Callao.	23
Tabla 5	Patrones de resistencia según prueba de sensibilidad convencional de los pacientes con multidrogorresistencia por prueba de sensibilidad rápida de Lima y Callao.	24
Tabla 6	Patrones de resistencia según prueba de sensibilidad convencional de los pacientes con multidrogorresistencia, por método PSR empleado, Lima y Callao.	25
Tabla 7	Características demográficas de los pacientes con monorresistencia a rifampicina por prueba de sensibilidad convencional	25

RESUMEN

Introducción: El Perú es el segundo país con mayor carga de Tuberculosis y el primero en reportar casos de tuberculosis multidrogorresistente (TB MDR) en Sudamérica. La resistencia a la rifampicina es considerada por la Organización Mundial de Salud como un marcador para tuberculosis multidrogorresistente, ya que diversos estudios han demostrado que más del 90% de cepas con resistencia a rifampicina en escenarios de alta prevalencia de TB MDR, se comportan como multidrogorresistentes. Por otra parte, la mono resistencia a rifampicina es un fenómeno poco frecuente que no ha sido estudiado ampliamente en nuestro medio.

Objetivos: Determinar la proporción de casos con resistencia a rifampicina por prueba de sensibilidad rápida que resultan multidrogorresistente mediante la respectiva prueba de sensibilidad convencional. Asimismo, determinar la proporción de pacientes con mono resistencia a rifampicina y describir su distribución según condición infección por VIH y tratamiento antituberculosis previo.

Diseño Se evaluó a los pacientes con tuberculosis pulmonar que cuenten con pruebas de sensibilidad rápida (MODS, GRIESS, Genotype ® MTBDRplus) con resistencia al menos a rifampicina y cuya cepa haya sido estudiada con una prueba de sensibilidad a drogas de primera línea (proporciones en agar en placa o MGIT) que figuran en la base de datos del Registro Médico Electrónico de la Estrategia Sanitaria Nacional de Prevención y Contra de la Tuberculosis (ESN PCT), durante el año 2013 y que pertenezcan a la jurisdicción Lima y Callao.

Resultados: El 93% de las pruebas con resistencia a rifampicina por prueba de sensibilidad rápida correspondió a cepas con multidrogo resistencia. Asimismo se determinó que el 5% de la muestra total eran monorresistentes a rifampicina por la

prueba de sensibilidad convencional, con una proporción de pacientes con infección por VIH baja y con una mayor frecuencia en aquellos sin tratamiento antituberculosis previo.

Conclusiones: El alto porcentaje de TB MDR en las cepas con resistencia a rifampicina por prueba de sensibilidad rápida y la baja proporción de mono resistencia a rifampicina permiten considerar a la resistencia a rifampicina como un marcador de TB MDR

Palabras claves: Tuberculosis resistente a múltiples medicamentos, rifampicina, pruebas de sensibilidad microbiana, resistencia a medicamentos.

Abstract

Background: Peru is the second country with more burden TB disease and the first in reporting cases with MDR TB in South America. Rifampicin resistant is recommended by WHO as a proxy of MDR TB, because several studies have demonstrated that a high proportion of rifampicin resistant strains are multidrug-resistant. On the other hand, rifampicin mono-resistance is uncommon, which have not studied broadly in our country

Objectives: We determine the proportion of rifampicin resistant tests that are MDR. Furthermore, we determine the proportion of rifampicin mono-resistance and describe the frequency of HIV infection and previous tuberculosis treatment in patients with mono-resistance tests.

Design: We evaluated pulmonary TB patients with rapid DST with rifampicin resistant (mono-resistance and MDR) with their respective first line drug susceptibility testing (proportion method or MGIT) which data belong to Electronic Medical Register (EMR) of ESN PCT of time period 2013 and Lima and Callao region.

Results: 93% of rifampicin resistance tests were multidrug-resistant. Besides, we found that 5% of total tests were rifampicin mono-resistant. Patient with rifampicin mono-resistance had low proportion of HIV infection and previous TB treatment in our country.

Conclusions: Rifampicin resistant is a marker of TB MDR in our country because the high proportion of rifampicin resistant strains that are MDR and low proportion of rifampicin mono-resistance.

Keywords: Tuberculosis Multidrug Resistant, rifampicin, microbial sensitivity test, drug resistance.

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

La tuberculosis es una de las causas infecciosas más importante de morbilidad y mortalidad entre los adultos a nivel mundial ⁽¹⁾. Se estima que la tercera parte del mundo está infectada por el *Mycobacterium tuberculosis* y según la Organización Mundial de la Salud (OMS), en el año 2012 se produjeron 8.6 millones de casos nuevos de tuberculosis en el mundo, de los cuales 450 000 fueron multidrogoresistentes y se produjeron 1.3 millones de muertes por tuberculosis ⁽¹⁾.

La tuberculosis multidrogorresistente (TB MDR), definida como la resistencia al menos a isoniacida y rifampicina, constituye uno de los principales problemas de salud de nuestro país. El Perú constituye el primer país con mayor carga de TB MDR en la Región de las Américas ^(1, 2); por ello la identificación de factores de riesgo, marcadores y el desarrollo de técnicas de diagnóstico rápidas son de vital importancia sobre todo para el inicio oportuno de una terapia adecuada. La resistencia a Rifampicina ha sido utilizada y recomendada por la OMS como un marcador de TB MDR ^(1, 4, 16), ya que diversos estudios han mostrado que un gran porcentaje de las cepas con resistencia a rifampicina son multidrogorresistentes ^(24, 25). Por otro lado, se ha observado que en áreas con baja mono resistencia a la rifampicina pero alta prevalencia de MDR, dicha relación es particularmente aplicable a diferencia de otras regiones como en África, en las que existe una alta prevalencia de mono resistencia a rifampicina ⁽³⁾, haciendo cuestionable las recomendaciones de la OMS. Se afirma que si teóricamente la resistencia a la rifampicina y TB MDR estuvieran perfectamente relacionadas, un test rápido y simple que detectara la resistencia a dicha droga sería suficiente, orientando esfuerzos y recursos económicos a dicho fin. En vista de que tanto las pruebas de sensibilidad fenotípicas y genotípicas disponibles presentan algunas deficiencias pues

las primeras no detectan cepas con baja resistencia a la rifampicina y las segundas no identifican todas las mutaciones relacionadas con la resistencia a la isoniacida ^(17, 18), la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el 2010 aprobó y recomendó un nuevo test rápido basado en amplificación de ácidos nucleicos conocido como Xpert MTB/RIF, el cual permite simultáneamente detectar tuberculosis y la resistencia a rifampicina, basándose estrecha relación con la resistencia a la isoniacida y un marcador de TB MDR ⁽⁴⁾.

En el Perú contamos con pruebas sensibilidad rápida (PSR) para isoniacida y rifampicina (MODS, GRIESS y GenotypeMDRTBplus) como pruebas de tamizaje, que permiten dirigir los tratamientos antituberculosis mientras se esperan los resultados de las pruebas de sensibilidad por el método de proporciones para diseñar el esquema de tratamiento definitivo sea sensible, multidrogorresistente o mono/polirresistente. Existen recomendaciones terapéuticas definidas en las guías nacionales de tratamiento con los resultados de las PS rápidas en casos de TB sensible, MDR y resistencia aislada a isoniacida; sin embargo en aquellos que presentan el patrón rifampicina resistente e isoniacida sensible no existía un criterio uniforme para el tratamiento inicial debido a la ausencia de evidencia en nuestro país. La Norma Técnica de Salud de Manejo Integral de la Tuberculosis recientemente publicada en noviembre del 2013 establece que todo paciente con resistencia a rifampicina (aislada o en conjunción a isoniacida) debería ser tratado como TB MDR, basándose en la evidencia disponible de considerar la resistencia a rifampicina como marcador de MDR, como lo recomienda la OMS.

En el Perú no contamos con estudios que muestren si existe una relación perfecta, casi cercana o cuestionable entre la resistencia a la rifampicina y la tuberculosis multidrogorresistente; el conocimiento de ello, permitiría orientar la terapéutica inicial de un grupo de pacientes con un patrón de resistencia poco estudiado en nuestro país.

Formulación del Problema

¿Cuál es la proporción de cepas con resistencia a rifampicina por PS rápida que se comportan como MDR mediante las PS de proporciones en pacientes con TBC pulmonar que pertenecen a la jurisdicción Lima y Callao durante el periodo 2013?

Objetivo General

Determinar la proporción de cepas con resistencia a rifampicina por PS rápida que se comportan como MDR mediante las PS de proporciones en paciente con TB pulmonar.

Objetivos Específicos

1. Determinar el grado de relación (porcentual) entre resistencia a rifampicina (aislada y asociada a isoniacida) por PS rápida y la evidencia de TB MDR por PS convencional, según el tipo de PS rápida (MODS, GRIESS, Genotype MTBDRplus).
2. Determinar el porcentaje de mono resistencia a la rifampicina en pacientes con tuberculosis pulmonar que pertenecen a la jurisdicción Lima y Callao durante el periodo 2013
3. Determinar el porcentaje de mono resistencia a rifampicina en pacientes con tuberculosis pulmonar según su condición de co-infección por VIH
4. Determinar el porcentaje de mono resistencia a rifampicina en pacientes nunca y antes tratados.

MARCO TEÓRICO

Las Américas constituye la región con la menor carga de tuberculosis en todo el mundo según el último reporte global de la OMS, presentando una prevalencia de 40 casos por 100 000 habitantes, una incidencia de 3.3 por 100 000 habitantes y una mortalidad de 1.9 por 100 000 habitantes. ⁽¹⁾.

El Reporte Global de Tuberculosis del año 2013 señala que el Perú durante los últimos 22 años ha presentado un descenso en la incidencia de la tuberculosis, de 317 a 95 por 100 000 habitantes; de la prevalencia, 554 a 121 por 100 000 habitantes y tasa de mortalidad, de 34 a 5.1 por 100 000 habitantes; sin embargo a pesar de ello ocupa el segundo lugar en Sudamérica con la mayor carga de tuberculosis después de Bolivia. ⁽¹⁾; es así que la Tuberculosis constituye uno de los problemas de salud pública más importantes en nuestro país y es la primera causa de muerte por enfermedad infecciosa que afecta a la población económicamente activa, siendo los grupos de edad más afectados los comprendidos entre los 15 y 54 años ⁽⁵⁾.

La TB MDR ha generado una delicada situación en nuestro país y más aún si consideramos los casos de tuberculosis extensamente resistente (TB XDR. Según el Reporte Global de Tuberculosis del año 2013, el Perú presentó un total de 1225 de casos confirmados de tuberculosis multidrogorresistente para el año 2012⁽¹⁾; habiéndose notificado 84 casos de TB XDR, concentrándose el 92% de los casos en Lima y Callao⁽⁶⁾.

RESISTENCIA A LA RIFAMPICINA

La rifampicina es uno de los pilares en el tratamiento de la tuberculosis cuyo mecanismo de acción es unirse a la subunidad B de la RNA polimerasa codificada por el gen *rpoB*; en consecuencia, inhibe la transcripción del ARN y la síntesis de proteínas.

Las mutaciones en el gen *rpoB* confieren resistencia a la rifampicina y los sitios más frecuentes están en los codones 531, 526 y 516, resultando en altos niveles de resistencia; mientras que una pequeña proporción de mutaciones en los codones 511, 516, 518 y 522 resulta en bajos niveles de resistencia ⁽¹³⁾.

La mono resistencia a rifampicina es rara ^(7, 8, 9). En un estudio clínico de 8212 pacientes dirigido por el *British Medical Research Council*, se encontró una mono resistencia a rifampicina en pacientes previamente tratados de 0.02% (2 individuos), en comparación con la resistencia a isoniácida que fue observada en el 5% de los asilados (447 personas) ⁽⁷⁾. Asimismo se refiere que existe una tasa de mutantes resistentes a rifampicina de aproximadamente 1 en 10^8 bacilos ⁽¹⁰⁾, a diferencia de la resistencia a isoniácida que es más común, a una tasa de 1 a 10^6 bacilos ⁽¹¹⁾. Sin embargo, en pacientes coinfectados con VIH, la mono-resistencia no es infrecuente. Al respecto, en 1993 el Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC) realizó un estudio comparativo de la resistencia a drogas antituberculosis en pacientes con y sin el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), en el cual se mostró que no hay diferencias en las tasas de mono resistencia a isoniácida, 7.8% y 10% para personas con y sin SIDA respectivamente; en contraste, una proporción significativamente alta de personas con SIDA presentaron mono resistencia a la rifampicina en relación a los seronegativos, 20/583 (3.4%) versus 19/3813 (0.5%) (RR 6.9, IC 95%, 3.7-12.8) ⁽¹²⁾. Otro estudio realizado en Kwazulu-Natal, Sudáfrica, con una alta prevalencia de infección por VIH, encontró cifras de hasta 8.8%, con predominio en el sexo masculino y entre los 25 y 29 años de edad ⁽¹⁶⁾. En un estudio realizado en EEUU, se identificó que la profilaxis con rifabutina contra el complejo *Mycobacterium avium*, es un factor de riesgo que podría explicar la elevada mono-resistencia a la rifampicina en pacientes con VIH ⁽¹⁵⁾. Por otra parte en pacientes no VIH, se ha observado que el antecedente de TB y el

tratamiento previo con rifampicina constituyen factores de riesgo para mono-resistencia a rifampicina ^(13,15).

El estudio de Vigilancia Nacional de la Resistencia a Medicamentos Antituberculosos realizada en Perú durante los años 2005-2006, reportó que la resistencia a rifampicina fue la tercera con mayor frecuencia después de la estreptomycin - con la más alta resistencia- y la isoniácida; con un resultado de 17/2160 (0.78%), de los cuales 0.41% tuvieron resistencia primaria y 0.36% fueron de resistencia secundaria ⁽²⁾.

La Norma Técnica de Salud de Manejo Integral de la tuberculosis establece que, tras realizar el diagnóstico de tuberculosis pulmonar, es necesaria la realización de pruebas de sensibilidad rápidas (fenotípicas o genotípica) las cuales otorgan patrones de sensibilidad desde 72 horas (pruebas moleculares) hasta semanas (MODS, GRIES, MGIT, BACTEC 460), como pruebas de tamizaje, y con ello instaurar de manera oportuna el tratamiento adecuado, mediante un algoritmo basado en los patrones de sensibilidad a rifampicina e isoniácida. Sin embargo, existen estudios que muestran dificultades en cuanto a la detección de la resistencia a drogas con estas técnicas. Van Deun, en el 2009 reportó que tanto BACTEC 460 como MGIT 960 no detectaron algunas cepas con bajos niveles de resistencia a rifampicina ⁽¹⁷⁾. Por otra parte el test GenoType MTBDR plus, si bien detecta resistencia a isoniácida y rifampicina, subestima los valores de la primera droga antituberculosis, ya que detecta un número limitado de genes que otorgan resistencia a isoniácida ⁽¹⁸⁾. Actualmente, la Organización Mundial de la Salud ha recomendado el uso del método Gene Xpert MTB/RIF tanto para el diagnóstico como para estudio de sensibilidad para tuberculosis, basándose en el hecho de que la resistencia a la Rifampicina suele acompañarse de resistencia a isoniácida y por lo tanto sería un adecuado marcador para TB MDR ^(1, 4, 16). Williamson en el 2012, usando Gene Xpert identificó 4 pacientes (3 con información clínica

disponible) cuyas muestras aisladas presentaban mutaciones al gen *rpoB* pero mostraban ser susceptibles a Rifampicina al usar MGIT 960; estos pacientes presentaron falla al tratamiento para rifampicina posteriormente. Asimismo, otro estudio mostró que Xpert detectó la resistencia a rifampicina en 209 de 211 pacientes (99.1% de sensibilidad) y a todos los pacientes susceptibles a rifampicina (100% de especificidad). En relación a los estudios fenotípicos y de secuenciación se obtuvo 15 resultados discordantes. De todos los pacientes, el 97.6% (200/205) de los pacientes con resistencia a Rifampicina fueron confirmados que padecían TBMDR través de pruebas fenotípicas ⁽¹⁹⁾.

El manejo de pacientes con mono resistencia a rifampicina no está totalmente estandarizado. Las guías internacionales ofrecen diferentes opciones; aunque el tratamiento de MRR no ha sido específicamente dirigido en la última guía de la OMS⁽²⁶⁾, en su guía del 2008 sobre el tratamiento de la tuberculosis recomienda que dichos pacientes deberían recibir una fluoroquinolona en lugar de la rifampicina en asociación con isoniacida y etambutol y agregando pirazinamida durante los primeros dos meses, con una duración de 12-18 ⁽²⁷⁾, con adición de un inyectable en pacientes con enfermedad extensa; sin embargo, es de notar que estas recomendaciones se basan en resultados de una prueba de sensibilidad completa. En una publicación reciente, la OMS crea una nueva categoría de drogoresistencia, la tuberculosis resistente a rifampicina, ya sea mediante métodos fenotípicos o genotípicos, que obligan a iniciar tratamiento como TB MDR ⁽⁴⁴⁾. Por otra parte la International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (IUATLD) recomendó que el tratamiento para mono resistencia a rifampicina debería ser similar al de TB MDR ⁽¹³⁾.

PRUEBAS DE SENSIBILIDAD

El método convencional para detectar TB MDR comprende el cultivo primario de la muestra y aislamiento del *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) seguida por un test de susceptibilidad a drogas. Una de las técnicas más utilizadas es el método de proporciones y fue descrito por Canetti y Grosset. Compara el número de colonias desarrolladas en medios sólidos (Löwenstein Jensen o Middlebrook 7H10 o 7H11) con diferentes diluciones de antibióticos respecto a un medio libre de antibióticos. El resultado se interpreta a través de la proporción de colonias capaces de crecer en presencia del fármaco: si la proporción es más del 1%, se considera resistente ⁽²⁸⁾. Todo este proceso dura aproximadamente entre 2 a 3 meses – el cultivo demora entre 3 a 8 semanas mientras que el test de sensibilidad, entre 2 a 4 semanas- y reporta la sensibilidad a drogas de primera línea como isoniacida, rifampicina, etambutol y estreptomicina ⁽²⁹⁾. Sus resultados son cuestionados por el tiempo de demora que impide realizar intervenciones terapéuticas efectivas. Mitnick et al cita una demora del resultado de esta prueba de sensibilidad en Lima, Perú de 62.9 ± 32.9 días desde la colección del esputo. Por otro lado, la sensibilidad a la pirazinamida es evaluada por el método Wayne el cual es realizado en un medio en condiciones ácidas (pH 5,5) como es el agar Dubos. Las colonias que están en un cultivo fresco de Löwenstein Jensen son sembradas en el agar Dubos, luego se incuba y posteriormente se añade fosfato de amonio. La positividad de esta prueba, es decir que la cepa estudiada es sensible, está indicada por la formación de una banda rosada luego de añadir el reactivo. Esto nos revelaría que la pirazinamida ha sido metabolizada a ácido pirazinoico, su forma activa, por la enzima pirazinamidasa ⁽²⁹⁾.

La prueba MODS (Microscopic Observation Direct Susceptibility), descrita por primera vez en el año 2000, constituye una forma de diagnóstico y a la vez, de determinación

de la susceptibilidad del *Mycobacterium tuberculosis* a drogas antituberculosis de primera línea como isoniacida y rifampicina. Su desarrollo es atribuido a la Bióloga Luz Caviedes de la Universidad Peruana Cayetano Heredia con la colaboración de la Escuela de Salud Pública Johns Hopkins Bloomberg y el Colegio Imperial de London. La prueba MODS es una técnica que utiliza el medio Middlebrook 7H9 y se basa en tres principios: el primero, el *Mycobacterium tuberculosis* crece más rápido en medio líquido que en medio sólido; el segundo, la formación característica de cordones que pueden ser visualizados a través de un microscopio de luz invertido en el medio líquido tempranamente y tercero, la incorporación que permite una rápida y directa evaluación de la susceptibilidad a drogas concomitantemente con la detección del crecimiento bacteriano ⁽³⁰⁾. La sensibilidad de MODS para la detección del MTB ha sido objeto de muchos estudios. Luz Caviedes et al ⁽²²⁾ realizó estudios de concordancia obteniendo resultados de sensibilidad y especificidad de 84.6% y 96.6% respectivamente para isoniacida y de 100% y 100% para rifampicina. Asimismo, Freddie Bwanga et al ⁽³¹⁾ en una revisión sistemática refiere una sensibilidad y especificidad para la detección de la resistencia a la rifampicina de 96% y 96% respectivamente y para la resistencia a isoniacida de 92% y 96% respectivamente. El estudio de calidad de proficiencia realizado por el Laboratorio Nacional de Referencia del Instituto Nacional de Salud para la PS MODS en el Laboratorio Referencial de Arequipa mostró una sensibilidad y especificidad de 100% para rifampicina ⁽²³⁾. El INS realizó un estudio de concordancia de rifampicina según PS MODS y sus correspondientes estudios por PS convencional, encontrando en los laboratorios de la DISA Lima Sur y Callao, una sensibilidad de 91.9%, 98.6%, y especificidad 97.9%, 97.8%, respectivamente. Los resultados de este ensayo son obtenidos en corto tiempo en comparación con otras pruebas de sensibilidad.

Jessica Minion et al ⁽³²⁾ reporta un tiempo promedio de 9,9 días (IC 95% 4.1-15,8) para el diagnóstico y evaluación de sensibilidad.

El método colorimétrico Griess está basado en la determinación de la actividad de la enzima nitrato reductasa (NR) en cultivos de *Mycobacterium tuberculosis* en crecimiento. El medio convencional Löwenstein - Jensen contiene NaNO₃ (1 g/l) como sustrato para la NR. Sobre este medio, con la adición del reactivo de Griess, el crecimiento de las micobacterias puede ser detectado tan pronto como con el cultivo convencional. Este método fue inicialmente desarrollado en Central Tuberculosis Research Institute en Moscú- Rusia, como un método DST de bajo costo que puede ser empleado en áreas de recursos limitados y baja capacidad técnica. La susceptibilidad para las drogas de primera línea puede ser determinada por el método Griess en 8-10 días luego de obtener un cultivo positivo (método indirecto), o en 21-28 días cuando se aplica en muestra de esputo frotis-positivo (método directo) ⁽³³⁾.

El método Griess directo ha sido implementado y validado en el Laboratorio de Referencia Nacional del Instituto Nacional de Salud. Entre 192 muestras, la sensibilidad y especificidad del método Griess para la detección de resistencia a INH fue 99.1% y 100% respectivamente. Para la identificación de la resistencia a RMP, la sensibilidad y especificidad fue 93.5% y 100% respectivamente ⁽²⁰⁾.

La prueba molecular Genotype ® MTBDR_{plus}, es un método que permite identificar las mutaciones más frecuentes asociadas con la resistencia a las drogas antituberculosas de primera línea: Isoniacida (INH) y Rifampicina (RIF) ⁽²¹⁾. Los métodos moleculares se basan en el conocimiento de que la resistencia a Rifampicina se debe a mutaciones presentes en la región “core” de 81 pb del gen que codifica a la subunidad β de la ARN

polimerasa bacterial (*rpoB*). Se ha determinado que más del 95% de la resistencia a RIF está presente en esta región, tanto a nivel mundial como en Perú ^(34, 35).

Por otro lado, la resistencia a INH se debe a mutaciones presentes en tres genes principales de la bacteria: 1) *katG*, que codifica la enzima catalasa-peroxidasa, donde 50 a 95% de las mutaciones ocurren en el codón 315; generalmente la presencia de mutaciones en este gen es un indicador de alta resistencia a la droga. 2) la región promotora del gen *inhA* que codifica una NADH enoil ACP reductasa, donde la resistencia se presenta entre 20-35% y es un indicador de baja resistencia. Finalmente 3) la región intergénica *oxyR-ahpC* que codifica a la región regulatoria de la enzima alkylhidroperoxidasa y que está involucrada en solo 10 a 15% de la resistencia a la droga ⁽³⁴⁾.

La prueba Genotype ® MTBDR_{plus} utiliza tiras reactivas de nitrocelulosa que contienen regiones parciales de los genes *rpoB*, *katG* e *inhA* fijadas sobre ella ⁽³⁶⁾. Se basa en un PCR multiplex que genera múltiples productos de amplificación (Sondas) los cuales, mediante una hibridación reversa, reconocen las mutaciones génicas (en forma de bandas sobre la tira) más frecuentes asociadas con la resistencia a INH Y RIF. Una tira de Genotype ® MTBDR_{plus} contiene 27 bandas de reacción: 21 bandas que señalan las mutaciones y 6 bandas control ⁽³⁷⁾.

Esta prueba tiene elevada concordancia frente al método de referencia, además de una gran rapidez (48 h desde la llegada de la muestra al laboratorio) detectando la resistencia a INH, RIF y a ambas drogas simultáneamente (TB-MDR) a partir de una muestra de esputo baciloscopía positiva. ⁽²¹⁾ Se debe señalar que la prueba requiere que la muestra de esputo sea frotis positivo para poder utilizarla ⁽³⁷⁾.

La principal limitación de éste y los demás métodos moleculares es que requieren de equipamiento y personal entrenado para la ejecución de la prueba. Otra limitante es que se necesita una alta inversión para implementar un adecuado nivel de bioseguridad para el desarrollo de esta prueba, sin embargo, el beneficio que se da a la población es valioso, puesto que la prueba molecular puede determinar la resistencia del bacilo a las drogas antituberculosas en un máximo de 72 horas a partir de esputo frotis positivo, y se puede procesar entre 12 a 48 muestras simultáneamente lo que constituye una herramienta muy útil en el diagnóstico y manejo de la tuberculosis.

Finalmente, Genotype ® MTBDR*plus* tiene una alta sensibilidad y especificidad para la detección de resistencia a INH y RIF simultáneamente en muestras de esputo y cultivos provenientes de laboratorio y puede constituirse en una herramienta alternativa para la detección rápida de la resistencia a estas drogas antituberculosas.⁽²¹⁾

CAPÍTULO II. ASPECTOS METODOLÓGICOS

Tipo de investigación:

Estudio descriptivo, retrospectivo

Población y muestra:

Todos los pacientes que figuran en la base de datos del Registro Médico Electrónico de la ESN PCT, durante el año 2013 y que pertenezcan a la jurisdicción Lima y Callao.

Criterios de inclusión

- Paciente con diagnóstico de tuberculosis pulmonar, nuevo o antes tratado, independientemente de su condición VIH.
- Pacientes que cuenten con prueba de sensibilidad rápida (MODS, GRIESS, Genotype MTBDRplus) que muestre resistencia a rifampicina aislada, o asociada a isoniacida (MDR).
- Paciente con resistencia a rifampicina según PS rápida y que cuente con resultados de una prueba de sensibilidad a medicamentos de primera línea, ya sea por el método de las proporciones o MGIT.
- Pacientes cuyo estudios de sensibilidad correspondan a muestras de esputo obtenidas durante el año 2013

Criterios de eliminación

- Pacientes con resistencia a rifampicina según PS rápida que no cuenten con un estudio correspondiente de sensibilidad convencional o con muestras contaminadas.
- Pacientes que cuenten con más de una PS rápida cuyos resultados de susceptibilidad a rifampicina sean discordantes.

Operacionalización de las Variables

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	NATURALEZA DE LA VARIABLE	VALORES DE VARIABLE	ESCALA
Edad	Tiempo que ha vivido una persona.	Cantidad de años desde su nacimiento hasta el año 2013	Cuantitativa	Años cumplidos	Razón
Sexo	Condición orgánica de los seres vivos	Condición orgánica de los seres vivos	Cualitativa	1. Masculino 2. Femenino	Nominal
Infección por VIH	Enfermedad causada por el virus de la inmunodeficiencia humana adquirida	Individuo con prueba Western Blot positiva para la infección por VIH	Cualitativa	1. SI 2. NO	Nominal
Tratamiento antituberculoso previo	Esquema terapéutico para la infección por <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Paciente con TB pulmonar con antecedente de haber recibido tratamiento antituberculosis por 30 días o más.	Cualitativa	1. Sensible 2. Resistente	Nominal
Resistencia aislada a Rifampicina por PS rápida	Cambios genéticos del <i>Mycobacterium tuberculosis</i> que contrarrestan el mecanismo de acción de la rifampicina.	Paciente con prueba rápida (MODS, GRIESS, Genotype MTBDRplus) que muestre resistencia únicamente a rifampicina.	Cualitativa	1. Sensible 2. Resistente	Nominal

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	NATURALEZA DE LA VARIABLE	VALORES DE VARIABLE	ESCALA
Multidrogorresistencia (MDR) por PS rápida	Cambios genéticos del <i>Mycobacterium tuberculosis</i> que contrarrestan el mecanismo de acción de la isoniacida y rifampicina detectados por PS fenotípicas y genotípicas	Paciente con prueba rápida fenotípica, genotípica que muestre resistencia a rifampicina e isoniacida.	Cualitativa	1. Sensible 2. Resistente	Nominal
Monorresistencia a rifampicina por PS convencional	Cambios genéticos del <i>Mycobacterium tuberculosis</i> que contrarrestan el mecanismo de acción de la isoniacida y rifampicina	Paciente con prueba convencional (proporciones o MGIT) que muestre resistencia únicamente a rifampicina.	Cualitativa	1. Sensible 2. Resistente	Nominal
Polirresistencia a rifampicina no MDR por PS convencional	Cambios genéticos del <i>Mycobacterium tuberculosis</i> que contrarrestan el mecanismo de acción de rifampicina y otras drogas antituberculosas detectados por PS convencional	Paciente con prueba convencional (proporciones o MGIT) que muestre resistencia a rifampicina y algún otro medicamento (excepto isoniacida).	Cualitativa	1. Sensible 2. Resistente	Nominal
Multidrogorresistencia (MDR) por PS convencional	Cambios genéticos del <i>Mycobacterium tuberculosis</i> que contrarrestan los mecanismos de acción de la isoniacida y rifampicina detectados por PS convencional	Paciente con prueba convencional (proporciones o MGIT) que muestre resistencia al menos a rifampicina e isoniacida.	Cualitativa	1. Sensible 2. Resistente	Nominal

Plan de análisis

Se efectuaron las coordinaciones administrativas con la Dirección General de la Salud de las Personas, a fin de contar con la autorización para la base de datos del Registro Médico Electrónico de la ESN PCT. Asimismo, el total de pacientes con diagnóstico de tuberculosis pulmonar que presentaron resistencia al menos a rifampicina por prueba de sensibilidad rápida asciende a 1094 pacientes.

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS versión 22®. Se determinó las características epidemiológicas (edad, sexo), clínicas (infección por VIH y otras) y antecedentes de tratamiento (nuevos, antes tratados) de los sujetos de estudio y el

porcentaje de pacientes con tuberculosis que presentan resistencia a rifampicina por PS rápida y de ellos, qué fracción tienen la documentación de TB MDR por PS convencional. Asimismo se describió la forma de distribución (porcentajes) de la mono resistencia a rifampicina en pacientes con infección VIH y en pacientes nunca y previamente tratados con esquemas antituberculosis.

Consideraciones Éticas

Se respetó la confidencialidad de los datos de la base del Registro Médico Electrónico de la ESN PCT y dado que no se utilizó un registro nominal, no se requirió de consentimiento informado. No habrá ningún conflicto de interés por los resultados de esta investigación. El financiamiento estará a cargo del investigador.

CAPITULO III. RESULTADOS

Los pacientes con tuberculosis pulmonar que presentaron resistencia a rifampicina por PSR fueron 1094, dentro de los cuales la mayoría tuvo resultados compatibles con MDR y otros con resistencia aislada a rifampicina. Luego de aplicar los criterios de inclusión y exclusión se obtuvieron 619 pruebas elegibles (56%); la mayoría fueron excluidos por no contar con resultados de su respectiva prueba de sensibilidad convencional. De las 619 pruebas elegibles, 453 correspondieron a pacientes varones y 166 a mujeres, con un promedio de 31 años con una desviación estándar de 14.7 y un rango de edad entre 1 y 85 años. En relación a antecedente de infección por VIH, sólo 15 (2.4%) tenían el diagnóstico de coinfección TB/VIH. Con respecto al antecedente de tratamiento antituberculosis, se obtuvo que la gran mayoría eran pacientes nunca tratados (383 versus 210), por otro lado, no se contó con los datos de esta variable en 26 pacientes (tabla 1)

Tabla 1. Características demográficas, pruebas de sensibilidad, condición VIH y tratamiento previo de los pacientes con tuberculosis pulmonar con resistencia a rifampicina.

Categoría	Valores	%
Edad		
Media	31	
Rango	1 – 85	
(n=619)		
Género		
Varones	453	73.2
Mujeres	166	26.8
Prueba sensibilidad rápida		
MODS	193	31.2
GRIEES	49	7.9
GENOTYPE	377	60.9
Comorbilidad		
VIH	15	2.4
No-VIH	604	97.6
Tratamiento Previo		
Si	210	35.4
No	383	64.6

Fuente: Registro Médico Electrónico de la ESN PCT

Los patrones de resistencia obtenidos según PSR mostraron 109 (17.6%) casos de resistencia a rifampicina (y sensible a Isoniacida), a los que denominaremos resistencia aislada a R por PSR) y 510 (82.4%) compatibles con multidrogo resistencia (resistentes conjuntamente a rifampicina e isoniacida). Por otro lado, al analizar los patrones de susceptibilidad encontrados en las PS convencionales, se observó que 35 (5.7%) fueron monorresistentes a rifampicina y 535 (86.4%) fueron multidrogorresistentes. El resto (7.9%) presentó otros patrones de resistencia (tabla 2).

Tabla 2. Patrones de resistencia de los pacientes, según el método utilizado: pruebas de sensibilidad rápida y convencional de Lima y Callao, 2013

Patrones de resistencia	Prueba sensibilidad rápida		Prueba sensibilidad convencional	
	n	%	n	%
Rifampicina	109	17.6	35	5.7
Isoniacida			2	0.3
Estreptomicina			2	0.3
RS			2	0.3
HR	510	82.4	535	86.4
HS			8	1.3
HEto			4	0.6
RSE			1	0.2
HSE			1	0.2
HSCpx			1	0.2
HEEto			2	0.3
HSEEto			2	0.3
HSEKmCm			1	0.2
HSEEtoKmCmCpx			1	0.2
Pansensible			22	3.5
TOTAL	619	100	619	100

R: rifampicina H: isoniacida S: estreptomicina Eto: etionamida E: etambutol Cpx: ciprofloxacino Km: kanamicina Cm: capreomicina

Fuente: Registro Médico Electrónico de la ESN PCT

Se documentó 573 pruebas con resistencia a rifampicina (considerando mono resistencia, cepas MDR y otros patrones de resistencia a rifampicina) mediante PS

convencional, de los cuales 535 fueron MDR; de esta manera se establece que el porcentaje de resistentes a rifampicina por PSR (resistencia aislada o conjunta con H) que fueron MDR mediante PS convencional es del 93%.

RESISTENCIA AISLADA A RIFAMPICINA POR PRUEBA DE SENSIBILIDAD RÁPIDA

Se obtuvo 109 resultados con resistencia aislada a rifampicina por PSR, de los cuales, al analizar sus correspondientes PS convencionales, se observó que el 35% mostró resistencia a rifampicina no MDR (mono resistencia y poli resistencia a rifampicina), 40% presentó un patrón MDR, 17% se reportó como pansensibles, y el 8% restante mostró mono o poli resistencia a isoniácida. Al analizar el escenario por método de PSR empleado, con MODS se obtuvieron 44 resultados con resistencia aislada a rifampicina, de los cuales el 38% mostraron mono resistencia, 55% presentó un patrón MDR; 5% fueron pansensibles y 2% exhibió resistencia a isoniácida. De los diagnosticados por GRIESS, 42% fueron mono resistentes a R por PS convencional, 8% se comportaron como MDR, 33% fueron reportados como pansensibles y 17% mostraron otros patrones de resistencia. En el caso del GenotypeMTDRplus, el 30% mostró mono/poli resistencia a R mediante la PS convencional; 36% fueron reportados como MDR, 23% pansensibles y en el 11% se reportaron otros patrones de resistencia (tabla 3). Asimismo se muestra los patrones de resistencia obtenidos de los 109 pacientes con resistencia aislada a rifampicina por PSR (tabla 4).

Tabla 3. Patrones de resistencia según prueba de sensibilidad convencional de los pacientes con resistencia aislada a rifampicina, por método PSR empleado, Lima y Callao.

Método utilizado para PSR	Resultado de PS convencional								Total	
	Mono resistencia a Rifampicina		MDR		Sensible a H-R		Otros patrones de sensibilidad			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
MODS	17	15.60	24	22.00	2	1.80	1	0.90	44	40.4
GRIESS	5	4.60	1	0.90	4	3.70	2	1.80	12	11.0
GENOTYPE	16 ^a	14.68	19	17.43	12	11.00	6	5.50	53	48.6
Total	38	34.9%	44	40.4%	18	16.5%	9	8.2%	109	100.0

^a Incluye monoresistentes a rifampicina (13) y polirresistentes a rifampicina (3); H: isoniácida R: rifampicina. Fuente: Registro Médico Electrónico de la ESN PCT

Tabla 4. Patrones de resistencia según prueba de sensibilidad convencional de los pacientes con resistencia aislada a rifampicina por prueba de sensibilidad rápida de Lima y Callao.

Patrones de resistencia	Prueba de sensibilidad convencional	
	n	%
R	35	32.1
H	1	0.9
S	2	1.8
RH	44	40.4
HS	3	2.8
RS	2	1.8
RSE	1	0.9
HEto	2	1.8
HSEetoKmCmCpx	1	0.9
Pansensible	18	16.5
Total	109	100.0

R: rifampicina H: isoniácida S: estreptomina Eto: etionamida E: etambutol
Cpx: ciprofloxacino Km: kanamicina Cm: capreomicina
Fuente: Registro Médico Electrónico de la ESN PCT

MULTIDROGO RESISTENCIA POR PRUEBA DE SENSIBILIDAD RÁPIDA

Se obtuvieron 510 resultados con multidrogo resistencia por PSR, de los cuales al ser comparados con sus respectivas pruebas de sensibilidad convencional, el 96% mostraron ser MDR y el 4% presentó otros patrones de resistencia como se muestra en la tabla 5. Al evaluar los resultados por PSR se obtuvo que MODS tuvo el mayor porcentaje de correspondencia (99.3%) al ser comparados con la PS convencional con GRIEES (91.8%) y GenotypeMDRTBplus (95%) (Tabla 6)

Tabla 5. Patrones de resistencia según prueba de sensibilidad convencional de los pacientes con multidrogo resistencia por prueba de sensibilidad rápida de Lima y Callao.

Patrones de resistencia	Prueba de sensibilidad convencional	
	n	%
H	1	0.20
HR	491	96.27
HS	5	0.98
HEto	2	0.39
HSE	1	0.20
HSCpx	1	0.20
HEEto	2	0.39
HSEEto	2	0.39
HSEKmCm	1	0.20
Pansensible	4	0.78
Total	510	100.00

Fuente: Registro Médico Electrónico de la ESN PCT

Tabla 6. Patrones de resistencia según prueba de sensibilidad convencional de los pacientes con multidrogo resistencia, por método PSR empleado, Lima y Callao.

Método utilizado para PSR	Resultado de PS convencional						Total	
	MDR		Sensible a H-R		Otros patrones de sensibilidad			
	n	%	n	%	n	%	n	%
MODS	148	29.0	1	0.1	0	0.0	149	29.1
GRIESS	34	6.6	0	0.0	3	0.5	37	7.1
GENOTYPE	309	60.5	3	0.5	15	2.8	324	63.8
Total	491	96.10	4	0.60%	18	3.30%	510	100.0%

H: isoniácida R: rifampicina MDR: multidrogoresistente

Fuente: Registro Médico Electrónico de la ESN PCT

MONO RESISTENCIA A RIFAMPICINA

Fueron 35 las pruebas de sensibilidad convencional que documentaron mono resistencia a rifampicina las cuales correspondieron a pacientes con una edad promedio de 32 años, con un rango entre 15 y 78, concentrándose la mayor cantidad de pacientes entre los 26 y 43 años y perteneciendo la mayor parte al género masculino (tabla 7). Asimismo se observó que el 5.7% de los pacientes presentó infección por VIH y un gran porcentaje (71%) no habían recibido tratamiento antituberculosis. Los pacientes con mono resistencia a rifampicina correspondieron al 5% del total de la muestra.

Tabla 7. Características demográficas de los pacientes con mono resistencia a rifampicina por prueba de sensibilidad convencional

	Total	Historia de tratamiento	
	N (%)	SI	NO
Total pacientes	35	10	25
Edad	32 [15-78]	33.4 [15-78]	31.6 [18-65]
Masculino	22 (62.85%)	7	15
≥40 años	11 (28.2%)	2	9
Infección VIH	2 (5.7%)	1	1

Fuente: Registro Médico Electrónico de la ESN PCT

DISCUSIÓN

La resistencia a rifampicina es considerada en muchos países y recomendada por la OMS como un marcador de TB MDR ^(1, 4, 16). En el presente estudio 535/573 (93%) pruebas con dicho patrón resultaron ser multidrogorresistentes; este dato indicaría que la resistencia a rifampicina en nuestro medio actuaría como un buen indicador de multidrogo resistencia. Estudios realizados en Vietnam y Reino Unido reportan porcentajes de 98% y 82.5% respectivamente ^(24,25). Este resultado reafirma el hecho de que todo paciente con resistencia a rifampicina debería ser tratado como MDR expuesto en la Norma Técnica de Salud de Manejo Integral de la tuberculosis publicada en noviembre del 2013.

La utilización de pruebas rápidas de sensibilidad en nuestro medio dificulta la decisión terapéutica frente a un resultado de resistencia aislada a rifampicina, debido a que la mono resistencia a rifampicina es un fenómeno raro ^(7, 8, 9) y que a los estudios de sensibilidad no llegan al 100%. Durante el año 2013 se obtuvo 109 pruebas con dicho patrón, de las cuales la tercera parte (32%) mostraron ser monorresistentes con la prueba de sensibilidad convencional. El estudio de Vigilancia Nacional de drogas antituberculosis del Perú en el año 2005 mostró tasas de 0.78% (17/2160) de los casos con tuberculosis ⁽²⁾. Traore *et al* reportó una media de 4.6% de mono resistencia a rifampicina de diversos países, mostrando la más alta prevalencia en Europa occidental ⁽³⁹⁾. Pablo Mendez *et al* realizó un estudio de vigilancia de resistencia a drogas en 19 países encontrando tasas desde 1.5% hasta 6.9% reportados en Tailandia y República Dominicana ⁽⁴⁰⁾. En comparación con los estudios anteriores, en Kwazulu-Natal, Sudáfrica, se reportó una alta proporción de monorresistentes a rifampicina durante los años 2007-2009, oscilando desde 7.3% hasta 10% ⁽³⁾. De esta manera en un contexto de

bajas tasas de mono resistencia a rifampicina y una alta prevalencia a MDR, como en el Perú, la relación entre resistencia rifampicina y TB MDR es aplicable.

Al comparar los patrones de resistencia por PSR con su respectiva PS convencional, existe una gran probabilidad de que el tratamiento para multidrogo resistencia instaurado inicialmente frente a un paciente con resistencia aislada a rifampicina por MODS sea el correcto, puesto que el 93% de los pacientes de nuestro estudio con dicho patrón, correspondieron a mono resistencia a rifampicina y MDR por el método de proporciones, a diferencia de los resultados obtenidos por GenotypeMDRTBplus y GRIEES que fueron de 66% y 50% respectivamente, en los que se encontraron otros patrones de resistencia (TB sensibles, poli resistencia a isoniácida, etc.). La detección de 109 pruebas con resistencia aislada a rifampicina es un valor elevado para un periodo de un año en nuestro contexto; dicho fenómeno se debe a la subestimación de las cepas resistentes a isoniácida encontradas para PSR MODS y GenotypeMDRTBplus (55% y 36% constituyen MDR) y a una sobreestimación de aquellas sensibles a rifampicina para GRIEES (33% son sensibles a isoniácida y rifampicina). Asimismo se observó que el 99.3% de pacientes con TB MDR por MODS fueron MDR por la prueba convencional; ello contrasta con los resultados obtenidos por GenotypeMDRTBplus y GRIEES que fueron 91.8% y 95% respectivamente. Al evaluar los resultados obtenidos se observó una sobreestimación de los sensibles a rifampicina en caso de GRIEES y GenotypeMDRTBplus. Estos resultados contrastan con los obtenidos en el estudio de calidad de proficiencia realizado por el Laboratorio Nacional de Referencia del Instituto Nacional de Salud para la PS GRIEES del Laboratorio Referencial de la DISA Lima-Ciudad mostró una sensibilidad de 100% para isoniácida y 100% para rifampicina; el Laboratorio Referencial de la DISA Lima-Este, presentó una concordancia de 95% para

isoniacida y 100% para rifampicina y con respecto a MODS del laboratorio referencial regional de la GERESA Arequipa presentó 100% de sensibilidad ⁽²³⁾.

La mono resistencia a rifampicina ha sido descrita muy poco en nuestro medio. En los resultados se obtuvo que los pacientes con dicho patrón se encontraban con mayor frecuencia en el rango de 26 y 43 años de edad, con 11 pacientes mayores o iguales a 40 años (28.3%). Esto difiere de otros estudios que reportan una predominancia en mayores o iguales de 40 años ^(15, 38, 41) e inclusive es considerado un factor de riesgo ⁽⁴¹⁾; sin embargo Covadia *et al* reporta que la mono resistencia en KwaZulu-Natal ocurría con mayor probabilidad entre los 25 y 29 años ⁽³⁾. En relación al género, se mantiene una prevalencia mayor en varones al igual que otros estudios ^(3, 15, 38, 41).

Los factores de riesgo para mono resistencia a rifampicina han sido establecidos por diferentes trabajos de investigación: antecedente de tratamiento antituberculosis, tratamiento previo con rifamicinas, coinfección con VIH, uso de alcohol y otros ^(15, 41, 42, 43). En el presente estudio sólo se identificó 2 pacientes con infección VIH y la mayor parte de los pacientes (71.4%) no presentaban tratamiento antituberculosis previo es decir, predominaba una transmisión primaria. Esto contrasta con lo mostrado por Sandman *et al* ⁽⁴²⁾ en un estudio de casos y controles (TB sensibles) donde reporta que la condición VIH se comporta como un factor de riesgo (OR 10.9 95% IC 1.1-indefinido) y es más frecuente en pacientes con tratamiento antituberculosis previo (OR 7, 95% IC 2.04-24.02). Asimismo Mukinda *et al*, compara los factores de riesgo para MRR respecto a la mono resistencia a isoniacida y obtiene que el uso previo de terapia antiretroviral (OR 6.4, 95% IC 1.3-31.8) estuvo significativamente asociado a mono resistencia a rifampicina, no así el antecedente de tratamiento previo antituberculosis ($p= 0.028$ OR 2.28, 95% IC 1.09-4.59) ⁽⁴¹⁾. Por otra parte Meyssonier *et al*, refiere que el 51% de los pacientes con mono resistencia a rifampicina presentaron historia previa

de tratamiento y el 23% tenían la condición infección por VIH ⁽³⁸⁾. El estudio de Vigilancia Nacional en el Perú 2005-2006 mostró que no existe diferencia en relación a si reciben o no tratamiento antituberculosis (9 presentaron resistencia primaria y 8, resistencia secundaria) ⁽²⁾.

En cuanto a las limitaciones del presente trabajo de investigación se debe considerar que desde el punto de vista operativo, todo muestra sensible a isoniacida y rifampicina por PS rápida, no es derivada para el estudio por PS convencional, por lo que sería una debilidad adicional del estudio si incluyéramos a las cepas sensibles a rifampicina; se cuenta con PS convencional de los pacientes que presentan resistencia al menos rifampicina. Asimismo es importante mencionar que no se determinó qué porcentaje de las 475 pruebas excluidas no contaban con prueba de sensibilidad convencional o poseían una muestra contaminada, dato que ayudaría a determinar la brecha de pacientes con TB resistente que no llega a recibir tratamiento específico. No obstante estas limitaciones, este trabajo otorga evidencia de que el tratamiento inicial de pacientes cuyos estudios de sensibilidad rápida presentan resistencia aislada a rifampicina deberían ser tratados como multidrogo resistentes y adicionalmente nos permite conocer las características epidemiológicas y clínicas de un grupo de pacientes con tuberculosis (mono resistencia a rifampicina) escasamente estudiado en nuestro país.

CONCLUSIONES

1. Existe una alta proporción de cepas con resistencia a rifampicina por PS rápida que son MDR por PS convencional.
2. MODS presenta mayor porcentaje de pruebas congruentes con sus respectivas pruebas convencionales en comparación con GRIEES y Genotype MDRTBplus.
3. Los pacientes con mono resistencia a rifampicina (5%), presentan una proporción baja de infección por VIH y de tratamiento antituberculosis previo.

RECOMENDACIONES

1. Todo paciente con resistencia aislada a rifampicina por prueba de sensibilidad rápida debería ser tratado inicialmente con un esquema para tuberculosis multidrogorresistente hasta contar los resultados de la prueba de sensibilidad convencional.
2. Debería realizarse estudios de control de calidad de los laboratorios referenciales encargados de realizar las pruebas GRIEES y GenotypeMDRTBplus con el fin de evitar resultados discordantes al compararlos con sus pruebas convencionales.
3. Se deberían realizar estudios sobre prevalencia y factores de riesgo a resistencia a rifampicina en el Perú para determinar la verdadera situación de esta condición pre-MDR.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World Health Organization. WHO report 2013: global tuberculosis control surveillance, planning, financing. Geneva: WHO: 2013.
2. Luis Asencios, Neyda Quispe, Alberto Mendoza-Ticona, Elena Leo et. al. Vigilancia Nacional de la Resistencia a Medicamentos Antituberculosos, Perú 2005-2006 Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública. 2009; 26(3): 278-87.
3. Coovadia YM, Mahomed S, Pillay M, Werner L, Mlisana K (2013) Rifampicin Mono-Resistance in *Mycobacterium tuberculosis* in Kwazulu-Natal, South Africa: a significant phenomenon in a high prevalence TB-HIV región. PLoS ONE 8(11): e77712. Doi: 10.1371/journal. Pone. 0077712
4. Steingart KR, Sohn H, Schiller I, Kloda LA, Boehme CC, Pai M, Dendukuri N. Xpert MTB/RIF assay for pulmonary tuberculosis y Rifampicin resistance in adults. Cochrane Database of Systematic Review 2013, Issue 1. Art. No.: CD009593. DOI: 10.1002/1465 1858. CD009593. Pub2.
5. Hernán Del Castillo, Alberto Mendoza Ticona, Juan Carlos Saravia, José G. Somocursio. Epidemia de Tuberculosis Multidrogorresistente y extensivamente resistente a drogas en el Perú: Situación y propuestas para su control. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública. 2009; 26(3): 380-86.
6. Ministerio de Salud, Estrategia Sanitaria Nacional de Prevención y Control de Tuberculosis (ESN PCT), Unidad de Informática.
7. Mitchinson, D. A., and A. J. Nunn. Influence of initial drug resistance on the response to short-course chemotherapy of pulmonary tuberculosis. Am. Rev. Respir. Dis. 1986; 133: 423-430.
8. Carpels, G., K. Fissette, V. Limbana, A. Van Deun, W. Vandembulcke, and F. Portaels. Drug resistance tuberculosis in sub-Saharan Africa: an estimation of incidence and cost for the year 2000. Tubercle 1995; 76: 480-486.
9. Githui, W. A., D. Kwamanga, J.M. Chakaya, F.G. Karimi, and P.G. Waiyaki. 1993. Antituberculosis initial drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* in Kenya: a ten year review. East Afr. Med. J. 70: 609-612.
10. Blanchard, J.S. Molecular mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. Annu. Rev. Biochem 1996; 65: 215-239.
11. Musser, J. M. Antimicrobial agents resistance in mycobacteria: molecular genetics insights. Clin Microbiol Rev 1995; 8: 496-514.
12. Burwen, D. R., J. L. Jones, and TB/HIV Surveillance Group. 1995. Epidemiology and diagnosis of tuberculosis (abstract). Am. J. Respir. Crit. Care Med. 151 (Suppl.):A144.
13. Caminero JA, ed. Guidelines for clinical and Operational Management of Drug-Resistant Tuberculosis. Paris, France: International Union Against Tuberculosis and Lung Disease, 2013

14. Ministerio de Salud. Norma Técnica de Salud para la atención integral de las personas afectadas por tuberculosis. Estrategia Sanitaria Nacional de Prevención y Control de Tuberculosis. Dirección General de Salud de las Personas, Ministerio de Salud del Perú, 2013.
15. Renee Ridzon, Cynthia G. Whitney, Matthew T. McKenna, et al. Risk Factor for Rifampicin Mono-resistant Tuberculosis. *AM J Respir Crit Care Med* 1998; 157:1881-1884.
16. Coovadia YM, Mahomed S, Pillay M, Werner L, Mlisana K (2013) Rifampicin Monoresistance in *Mycobacterium tuberculosis* in KwaZulu-Natal, South Africa: a significant phenomenon in a High Prevalence TB-HIV Region. *Plos One* 8(11): e77712. Doi.10.1371/Journal. Pone.0077712.
17. Van Deun A, Barrera L, Bastian I, Fattorini L, Hoffman H, Kam KM, et al. *Mycobacterium tuberculosis* strain with highly discordant rifampin Susceptibility test results. *J Clin. Microbiol.* 2009 Nov; 47(11): 3501-6.
18. Zeka AN, Tasbakan S, Cavusoglu C (2011). Evaluation of the GeneXpert MTB/RIF assay for rapid diagnosis of tuberculosis and detection of Rifampicin Resistant in pulmonary and extrapulmonary specimens. *Journal of Clinical Microbiology* 49: 4138-4141.
19. WHO Policy Statement “Automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance. Xpert MTB/RIF System. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241501545_eng.pdf.
20. L. A. Solis, S.S.Shin, L. L. Han, F. Llanos, M. Stowell, A. Sloutsk. Validation of a rapid method for detection of *M. tuberculosis* resistance to isoniazid and rifampin in Lima, Peru. *Int J Tuberc Lung Dis* 2005; 9(7): 760-764.
21. Luis Asencios, Marco Galarza, Neyda Quispe, Lucy Vásquez. Prueba molecular Genotype MTBDRplus, una alternativa para la detección rápida de tuberculosis multidrogorresistente. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*. 2012; 29(1): 92-98.
22. David A. J. Moore, Carlton A. W. Evans, Robert H. Gilman, Luz Caviedes. Microscopic- Observation Drug-Susceptibility Assay for the diagnosis of TB. *N Engl J Med* 2006; 355:1539-50
23. Elena Leo Hurtado, Luis Asencio Solis. Susceptibilidad de *Mycobacterium tuberculosis* a drogas isoniácida y rifampicina – Método Nitrato Reductasa – GRIESS. Informe técnico. Lima: Instituto Nacional de Salud, Laboratorio de referencia nacional de Micobacterias – Programa de Evaluación Externa de Calidad (PEEC); 2013.
24. Tuberculosis Section, Health Protection Agency Centre for Infections. The UK mycobacterial surveillance network report 1994-2003: ten years of Mycobnet. London: Health Protection Agency; 2005.

25. M. Caws, Phan Minh Duy, Dau Quang Tho, Nguyen Thi, Ngoc Lan, Dai Viet Hoa and Jeremy Farrar. Mutations Prevalent among rifampicin and isoniazid- resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates from a Hospital in Vietnam, J. Clin. Microbiol. 2006, 44(7): 2333.
26. Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis – 2011 update. WHO/HTM/TB/2011.6.2011:[http://www.who.int/tb/challenges/mdr/programmatic_guidelines_for_mdrtb/en/].
27. Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis. Emergency update 2008. WHO. WHO/ HTM/TB/2008.402, http://whqlibdoc.who.int/publications/2008/9789241547581_eng.pdf.
28. American Thoracic Society. Diagnostic standards and classification for tuberculosis. Am J Resp Crit Care Med 2000; 161: 1376-95.
29. César Ugarte-Gil, Mario Ponce Alvarez¹, David A. J. Moore, Pruebas de sensibilidad para *Mycobacterium tuberculosis*. Acta Medica Peruana. 2008, 25(3): 171-175\
30. Freddie Bwanga. Rapid tests for multidrug resistant tuberculosis in low income settings [Thesis for doctoral degree]. Uganda: Makerere University, Medicine Faculty; 2010.
31. Freddie Bwanga, Sven Hoffner, Melles Haile and Moses L Joloba, Direct susceptibility testing for multi-drug resistant tuberculosis: A meta-analysis. BMC Infectious Diseases 2009, 9:67.
32. Jessica Minion, Erika Leung, Dick Menzies, Madhukar Pai Microscopic-observation drug susceptibility and thin layer agar assays for the detection of drug resistant tuberculosis: a systematic review and meta-analysis *The Lancet Infectious Diseases* - 1 October 2010, 10(10): 688-698.
33. Canetti G, Fox W, Khomenko A, et al. Advances in techniques of testing mycobacterial drug sensitivity and the use of sensitivity test in tuberculosis control programmes. Bull World Health Organ 1969; 41: 21-43
34. Telenti A, Honoré N, Bernasconi C, March J, Ortega A, Heym B, Takiff HE, Cole ST. Genotyping assessment of isoniazid and rifampin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: a blind study at reference laboratory level. J Clin Microbiol. 1997;35(3): 719-23
35. Agapito J, Neyra V, Castro J, Accinelli R, Rodríguez I, Espinoza JR. Caracterización de las mutaciones en el gen *rpoB* Asociadas a la resistencia a rifampicina en pacientes con tuberculosis pulmonar. Rev Peru Med. Exp Salud Publica. 2002;19(3):117-23
36. Hilleman D, Rusch-Gerdes S, Richter E. Evaluation of the Genotype MTDRplus assay for rifampin and isoniazid susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* strains and clinical specimens. J Clin Microbiol. 2007; 45(8):2635-40.

37. Hain Lifescience [Internet] Nehren, Germany. Hain Lifescience GmbH; 2010 [actualizada el 22 de agosto del 2009; citada el 12 de julio del 2010]. Genotype@MTBDR*plus*. Disponible en: <http://www.hainlifescience.de/en/products/microbiology/mycobacteria/genotype-mtbdplus.htm>
38. Vanina Meyssonier, Thuy Van Bui, Nicolas Veziris, Vincent Jarlier and Jerome Robert. Rifampicin Mono-resistant Tuberculosis in France: a 2005-2010 retrospectively cohort analysis. BMC Infectious Diseases 2014, 14: 18.
39. Traore H, Fissette K, Bastian I, Devleeschouwer M, Portaels F. Detection of rifampicin resistance in Mycobacterium tuberculosis isolates from diverse countries by a commercial line probe assay as an initial indicator of multidrug resistance. Technical note. The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease. 2000, 4: 481-484.
40. Pablo –Méndez A, Raviglione MC, Laszlo A, Binkin N, Rieder HL, et al. Global surveillance for antituberculosis-drug resistance, 1994-1997. New England Journal of Medicine 1998, 338: 1641-1649.
41. Mukinda F, Theron D, Van Der Spuy G, Jacobson K, Roscher M, et al. Rise in rifampicin mono-resistance tuberculosis in Western Cape, South Africa. The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease. 2002, 16:196-202.
42. Ridzon R, Whitney CG, McKenna MT, Taylor JP, Ashkar SH, et al. Risk factors for rifampicin mono-resistant tuberculosis. American Journal of respiratory and critical care medicine. 1998, 157: 1881-1884.
43. Weltman A, Righi S, DiFerdinando G Jr, Jovell R, Driscoll. Rifampicin-resistant Mycobacterium tuberculosis. The Lancet. 1995, 345: 1513.
44. World Health Organization. Definitions and reporting framework for tuberculosis 2013 revision. WHO/HTM/TB/2013.2. Geneva, Switzerland: WHO, 2013